

**UNIVERSIDAD:** Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Instituto de Fisiología Vegetal.

**COMITÉ ACADÉMICO:** Desarrollo Regional Rural y Urbano.

**TÍTULO DEL TRABAJO:** EFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO Y APLICACIONES DE ÁCIDO ABSCÍSICO (ABA) SOBRE LA MICORRIZACIÓN CON *GLOMUS MOSSEAE* Y LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA EN *LOTUS GLABER*.

**AUTOR/ES:** Echave Martín, Conti Martín, Clúa Ariel, Ruscitti Marcela, Beltrano José.

**E-MAIL DE LOS AUTORES:** [mruscitti@ceres.agro.unlp.edu.ar](mailto:mruscitti@ceres.agro.unlp.edu.ar), [beltrano@netverk.com.ar](mailto:beltrano@netverk.com.ar)

**PALABRAS CLAVES:** micorrizas, sequía.

**PALAVRAS-CHAVES:** fungos micorrízicos, seca

## INTRODUCCIÓN

En la Pampa Deprimida, la producción de carne se establece en áreas con suelos de capacidad de uso restringida y donde no abundan las leguminosas, en los últimos años se han realizado esfuerzos para incorporar especies como trébol blanco, melilotus y alfalfa, entre otras, sin embargo, los resultados han sido aleatorios, ya que el establecimiento de estas especies se ha visto dificultado por fallas en la implantación o persistencia en estos tipos de suelos (Arosteguy y Garriz, 1972; Cahuepe, 1970; Cahuepe et. al., 1982).

El estrés por sequía es el principal factor que limita los rendimientos. Los efectos de la deficiencia de agua sobre los cultivos estarán directamente relacionados con la intensidad y duración del estrés, con el estado fenológico y la capacidad genética del cultivar utilizado (Panozzo & Eagles, 1999). Las micorrizas arbusculares son hongos que habitan las raíces de la mayoría de las plantas. Estos hongos pueden mitigar la respuesta de las plantas al estrés hídrico aumentando su resistencia (Ruiz-Lozano et al. 1995). La colonización de las raíces por hongos micorrízicos modifica las relaciones hídricas y la capacidad de las plantas para resistir el estrés por sequía (Augé et al 1987; Subramanian et al. 1995). Algunos autores han sugerido que las micorrizas pueden ser mas importantes cuando las plantas crecen en condiciones de sequía que con alta disponibilidad de agua (Sánchez-Díaz 1990). En general se acepta que las plantas micorrizadas muestran un uso mas eficiente del agua y se recuperan mas rápidamente de situaciones de estrés respecto de plantas no micorrizadas (Al-Karaki 1998), aumentando la capacidad de absorción de agua del suelo (Davies et al. 1992, Augé et al. 1998).

*Lotus glaber* es una leguminosa que posee valiosas características, tal como su capacidad para soportar condiciones de sequía y anegamiento (Montes y Cauhepe, 1985; Vonesch, 1968). Además es una especie adaptada a ambientes de escasa fertilidad, con gran valor potencial para aumentar la productividad y calidad de las pasturas naturales (Domingo, 1970; González et. al, 1981). No obstante, la información sobre *Lotus glaber* es incompleta, existiendo una demanda de conocimientos sobre aspectos biológicos ligados a la producción. Se ha difundido en una amplia zona de la provincia de Buenos Aires (Burkart 1952; Burkart, 1967; Montes, 1980), debido a su capacidad de adaptación a diversas condiciones de estrés.

Recientemente se comenzó a estudiar la respuesta de la micorrización en distintas especies, sometidas a estrés hídrico. Los primeros estudios demostraron que las micorrizas serían capaces de moderar el efecto detrimental del estrés. Ante situaciones de estrés severo, el número de hojas verdes, el contenido de clorofila, la transpiración y la conductancia estomática son mayores en las plantas micorrizadas (Beltrano et al, 2003).

En condiciones naturales y de cultivo, la mayoría de las plantas adaptadas a diversos nichos ecológicos se encuentran asociadas con microorganismos del suelo, estableciendo relaciones benéficas (simbióticas) como es el caso de las micorrizas. Esta estrategia evolutiva ha sido muy exitosa, y a pesar de que su conocimiento se reporta desde hace más de un siglo, solo durante las últimas décadas el hombre ha comenzado a utilizarla en las producciones hortícolas, frutícolas y forrajeras, donde existen evidencias de su potencialidad para el desarrollo competitivo y sostenible de los sistemas de producción. Adicionalmente,

las nuevas tendencias del mercado tanto mundial como regional, buscan ser más cautelosas en lo referente a la aplicación de agroquímicos y pesticidas en la agricultura, por los problemas que ocasionan sobre el medio ambiente y la salud humana. El uso práctico de las micorrizas se fundamenta sobre todo en incrementar la habilidad del cultivo para soportar situaciones adversas y se reconoce que estos hongos pueden mejorar la respuesta de las plantas a situaciones de estrés ambiental (Trappe, 1987).

La respuesta de lotus a la micorrización ha sido poco estudiada. La búsqueda de mecanismos de adaptación a factores abióticos permite la incorporación de cultivos de gran potencial forrajero, como es el *Lotus glaber* como alternativa de adaptación a situaciones adversas incorporando el concepto de sustentabilidad de los sistemas.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar, la respuesta de plantas de *Lotus glaber* inoculadas con el hongo micorrícico *Glomus mosseae*, ante situaciones de déficit hídrico y aplicación de hormonas vegetales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Semillas de lotus se sembraron en macetas de 500 ml de capacidad con una mezcla de tierra (de un suelo Argiudol vértico, con 50 ppm de P y pH 6,8)-vermiculita y perlita (2:1:1), previamente tinalizado. Los experimentos se realizaron en los invernáculos del Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE) con fotoperíodo natural (septiembre) para la localidad de La Plata. La siembra se llevó a cabo el 16 de setiembre y la emergencia fue uniforme el 20 de setiembre. Al momento de la siembra, se incorporó, a la mitad de las macetas, a 4 cm de profundidad, 2 gramos de inóculo micorrícico por recipiente, el cual estaba constituido por una mezcla de sustrato, esporas, hifas y fragmentos de raíces de trébol inoculadas con *G. mosseae*. Las plantas fueron sometidas a los siguientes tratamientos:

✓ Micorrizadas:

- Control (C): las plantas fueron mantenidas a capacidad de campo ( $\Psi = -0.03$  MPa) durante todo el ciclo del cultivo.
- Estrés (E): las plantas fueron sometidas a estrés hídrico, por suspensión de riego a partir de 90 días después de la siembra ( $\Psi = -1.3$  MPa).
- ABA: las plantas fueron tratadas con ácido abscísico ( $10^{-5}$  M)

✓ No micorrizadas:

- Control (C): las plantas fueron mantenidas a capacidad de campo ( $\Psi = -0.03$  MPa) durante todo el ciclo del cultivo.
- Estrés (E): las plantas fueron sometidas a estrés hídrico, por suspensión de riego a partir de 90 días después de la siembra ( $\Psi = -1.3$  MPa).
- ABA: las plantas fueron tratadas con ácido abscísico ( $10^{-5}$  M)

Las plantas se distribuyeron en 3 bloques al azar.

A los 70 días después de la siembra (DDS) y cada 10 días se cosecharon 5 plantas por tratamiento. Se determinó la altura (H), el área foliar (AF), el peso fresco y seco de hoja (PFH) (PSH), el peso fresco y seco de tallo (PFT) (PST), el peso fresco y seco de raíz (PFR) (PSR), longitud de raíz (LR) y volumen de raíz (VR). A los 80, 100 y 120 días se evaluó el porcentaje de micorrización (%M) por observación microscópica según Trouvelot *et al* (1986), previa tinción de las raíces en azul de tripán en lactofenol (Phillips & Hayman, 1970).

Los datos se analizaron estadísticamente por ANOVA y las medias se compararon por LSD ( $P < 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de micorrización fue elevado y uniforme en todos los tratamientos, incluso en las plantas sometidas a estrés hídrico y tratadas con ABA (Tabla 1). Estos resultados coinciden con lo encontrado por Bethlenfalvay *et al.* (1988); Bryla and Duniway (1997); Morte *et al.* (2000); para otras especies, en donde la sequía no afecta el porcentaje de colonización por micorrizas.

Tabla 1: Porcentaje de micorrización en raíces de *Lotus glaber* inoculadas con *Glomus mosseae*, a los 80, 100 y 120 días después de la siembra, en plantas sometidas a estrés hídrico o tratadas con ABA.

Tratamientos	80 DDS	100 DDS	120 DDS
C	81.73	91.1	91.06
EST		90.53	
ABA		91.2	86.6

A los 70 DDS se observó que, las plantas no micorrizadas tuvieron mayor PFR, PSR y VR, respecto de las plantas micorrizadas (Tabla 2).

A los 80 DDS, se observó que en las plantas crecidas a capacidad de campo los parámetros PFR, VR, PSR y PST fueron superiores en las plantas inoculadas. Las determinaciones que presentaron diferencias significativas en las plantas micorrizadas respecto a las no micorrizadas en el tratamiento con estrés hídrico fueron H, AF, PFH, PFT, VR, PSH y PSR. En el tratamiento con ABA, a los 80 días DDS se observaron diferencias significativas en AF, PFH, PFR, VR y PSH a favor de las plantas no micorrizadas (Tabla 3).

Tabla 2: altura (H), área foliar (AF), peso fresco (PF) y seco (PS) de hojas (H), tallos (T) y raíces (R), volumen y longitud de raíces de plantas de *Lotus glaber* inoculadas (Inoc.) y no inoculadas (N Inoc.) con *Glomus mosseae*. Primera extracción 70 días después de la siembra, previa a someterlas a estrés.

Tratamientos	Altura (cm)	P.F.H (g)	P.F.T. (g)	P.F.R. (g)	A.F. (cm <sup>2</sup> )	Long. Raíz (cm)	Vol. Raíz (ml)	P.S.H (g)	P.S.T (g)	P.S.R (g)
N Inoc	25.188a	3.661a	1.903a	7.730a	141.593a	18.550a	7.588a	0.698a	0.488a	0.768a
Inoc	25.050a	3.374a	1.605a	5.468b	141.853a	19.050a	5.750b	0.669a	0.421a	0.645b

Tabla 3: altura (H), área foliar (AF), peso fresco (PF) y seco (PS) de hojas (H), tallos (T) y raíces (R), volumen y longitud de raíces de plantas de *Lotus glaber* inoculadas (Inoc.) y no inoculadas (N Inoc.) con *Glomus mosseae*. Segunda extracción 80 días después de la siembra. Con aplicaciones de ABA o sometidas a estrés hídrico ( $\Psi = -1.3$  MPa).

Tratamientos	H (cm)	AF (cm <sup>2</sup> )	P.F.H (g)	P.F.T. (g)	P.F.R. (g)	Long. Raíz (cm)	Vol. Raíz (cm <sup>3</sup> )	P.S.H (g)	P.S.T (g)	P.S.R (g)
TEST N Inoc	42.42a	167.42a	4.23a	3.90a	5.91b	9.17a	6.33b	0.91a	0.84b	0.30c
EST N Inoc	29.08b	37.11d	0.84d	1.29c	4.94b	7.75b	5.67b	0.62b	0.77b	0.66b
ABA N Inoc	38.17a	170.85a	4.59a	3.96a	8.30a	6.17c	8.50a	1.02a	1.10a	0.87a
TEST Inoc	37.00a	127.03b	3.80a	3.93a	7.40a	7.50b	9.33a	0.78b	1.01a	0.96a
EST Inoc	30.58b	64.06c	1.58c	1.90b	4.22b	4.17c	9.08a	0.66b	0.66b	0.99a
ABA Inoc	37.42a	124.61b	3.03ab	3.81a	4.63b	4.75c	5.70b	0.75b	1.08a	0.88a

A los 90 DDS en las plantas con buena disponibilidad hídrica, las micorrizadas presentaron mayor AF, PFH, PFT, PFR, LR, PSH y PST respecto a las no micorrizadas.

Cuando las plantas fueron sometidas a estrés hídrico, las micorrizadas mostraron valores mayores en AF, PFH, PFT, PFR, LR, VR, y PST que las no micorrizadas. En las plantas tratadas con ABA, solo hubo diferencias, aunque no significativas a favor de las inoculadas en la LR (Tabla 4).

Tabla 4: altura (H), área foliar (AF), peso fresco (PF) y seco (PS) de hojas (H), tallos (T) y raíces (R), volumen y longitud de raíces de plantas de *Lotus glaber* inoculadas (Inoc.) y no inoculadas (N Inoc.) con *Glomus mosseae*. Tercera extracción 90 días después de la siembra. Con aplicaciones de ABA o sometidas a estrés hídrico ( $\Psi = -1.3$  MPa).

Tratamientos	H (cm)	AF (cm <sup>2</sup> )	P.F.H (g)	P.F.T (g)	P.F.R. (g)	Long Raiz (cm)	Vol Raiz (cm <sup>3</sup> )	P.S.H (g)	P.S.T (g)	P.S.R (g)
TEST N Inoc	46.17a	124.09c	3.67a	4.47b	8.63a	6.92b	9.58a	0.77ab	1.22b	1.04a
EST N Inoc	31.25b	66.55e	1.05d	1.06c	4.10c	8.50b	4.67c	0.56b	0.62d	0.52b
ABA N Inoc	44.97a	174.88a	4.68a	5.40a	9.63a	10.08a	11.83a	0.94a	1.42a	0.94a
TEST Inoc	43.50a	135.67b	3.74a	5.35a	6.23b	10.00a	6.33b	0.84a	1.48a	0.87a
EST Inoc	28.92b	72.64d	1.73c	1.85b	4.94b	9.67a	5.33b	0.50b	0.75c	0.55b
ABA Inoc	44.08a	122.60c	2.95b	4.42a	7.45a	10.75a	7.17b	0.72ab	1.11b	0.85a

Cien días después de la siembra se observó que las plantas micorrizadas, cultivadas a capacidad de campo, tuvieron mayor peso fresco y seco del tallo respecto de las no micorrizadas, las sometidas a estrés hídrico respondieron favorablemente a la micorrización y mostraron mayor peso fresco y seco tanto del tallo como de las hojas. En las plantas asperjadas con ABA, el número de flores de las micorrizadas fue similar al testigo, mientras que en las no inoculadas hubo un importante número de abortos y solo cuajaron un 50 % de flores respecto a las plantas no tratadas (Tabla 5).

Tabla 5: número de flores, peso fresco (PF) y seco (PS) de hojas (H) y tallos (T) de plantas de *Lotus glaber* inoculadas (Inoc.) y no inoculadas (N Inoc.) con *Glomus mosseae*, 100 días después de la siembra. Con aplicaciones de ABA o sometidas a estrés hídrico ( $\Psi = -1.3$  MPa).

Tratamientos	N° Flores	P. F. H. (g)	P. S. H. (g)	P. F. T. (g)	P. S. T (g)
TEST N Inoc.	12.333a	4.020b	0.927b	5.487a	1.741a
EST N Inoc.	0.318d	0.812d	0.390d	0.909d	0.518d
ABA N Inoc.	5.937bc	5.439a	1.882a	4.291b	2.244a
TEST Inoc.	12.7a	2.99c	0.66c	6.1a	1.84a
EST Inoc.	0.001d	1.827c	0.533c	2.124c	0.893c
ABA Inoc.	10.167a	3.415b	0.908b	5.333a	1.759a

## CONCLUSIONES

Con estos resultados se confirma que el *Lotus glaber* (leguminosa) es una especie micotrófica, alcanzando porcentajes de micorrización de alrededor del 90 % para todos los tratamientos. Además, se pone en evidencia que las primeras etapas de la micorrización son en base a aportes de asimilados generados por el hospedante. Esto se corrobora en nuestro trabajo con los menores valores obtenidos, a los 70 DDS, en casi todos los parámetros analizados de las plantas micorrizadas respecto de las no micorrizadas. Esta situación comienza a revertirse en las determinaciones siguientes para las plantas cultivadas a capacidad de campo y sobre todo las que fueron sometidas a estrés hídrico por sequía, confirmando lo expuesto por otros autores con respecto a que la micorrización es mas favorable, para la planta huésped, en condiciones de estrés. El tratamiento con ABA no mostró diferencias entre las plantas micorrizadas y las no micorrizadas salvo en el número de flores.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aliaga, O. 1980. Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Agronomía, Chile (tesis de grado).
- Al-Karaki GN, Clark RB (1998). J Plant Nutr 21:263-276.
- Arosteguy, J.C. y Garriz, A.A. 1972. Balcarce (tesis de grado).
- Augé R. 2001 *Mycorrhiza*. 11:3-42.
- Augé RM, Duan X, Croker JL, Witte WT, Green CD (1998). J. Exp. Bot. 49:753-759.
- Augé RM, Schekel, KA, Wample, RL (1987). Physiol. Plant. 70:175-182.
- Azcón-Aguilar, C and Barea J. M. 1997. Scientia Horticulturae 68: 1-24.
- Beltrano, José; Marta Ronco; María I. Salerno; Marcela Ruscitti y Olga Peluso. 2003. *Rev. Ciencia y Tecnol. UNSE* 8:1-7.
- Bethlenfalvay, GJ, Brown, MS, Ames, RN, Thomas, RS (1988) Physiol. Plant. 72: 565-571.
- Bray, EA., 1993. Plant Physiol 103: 1035-1040.
- Bryla, DR, Duniway, JM (1997). Plant and Soil 197: 95-103.
- Burkart A. 1952. Acmé, Buenos Aires.
- Burkart A. 1967. In: Flora de la provincia de Buenos Aires, ed. A.L. Cabrera. tomo 4, parte 3ª. Col. Científica del INTA, Buenos Aires.
- Cauhepe, M.A. 1970. Balcarce (tesis M. Sc.).
- Cauhepe, M.A., Ridruejo, E. y Aldea, O. 1982. Rev. Arg. Prod. Anim. 2: 510-518.
- Danneberg, G; Latus, C; Zimmer, W; Hundeshagen, B; Scheinder-Poetsch, HJ and Bothe, H. 1992. J. Plant Physiol. 141:33-39.
- Davies FT, Potter JR, Linderman RG (1992). J. Plant Physiol. 139:289-294.
- Domingo, O.A. 1970. Balcarce (tesis M. Sc. inédita).
- Gonzales, E., Mazzanti, A. y Arosteguy, J.C. 1981. Memoria Depto. Prod. Animal, Balcarce, parte IV: 3-8.
- Leopold, A.c. 1990. Alscher RG and Cumming JR (eds.) Stress responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms. Wiley-Liss New York.
- Montes, L. 1980. L. News. 11: 9-10.
- Montes, L., y Cauhepe, M.A. 1985. Rev. Arg. Prod. Anim. 5: 313-321.
- Morte, A, Lovisolo, C, Schubert, A. (2000). Mycorrhiza 10: 115-119.
- Panozzo J, Eagles H (1999) Austr J Agric Res 50:1007-1015.
- Phillips, J.M and Hayman, D.S. 1970. Trans. Br. Mycol. Soc. 55:159-161.
- Ruiz-Lozano JM, Azcón R, Gómez M (1995) Appl. Environ. Microbiol 61:456-460.
- Sánchez-Díaz M, Pardo M, Antolin M, Peña J, Aguirreolea J (1990) Plant Sci. 71:215-221.
- Subramanian KS, Charest C (1995) Mycorrhiza 5:273-278.
- Trappe, J. M.1987. Ecophysiology of VA Mycorrhizal plants. CRC Press Boca Raton, Fl. Pp. 5-25.
- Trouvelot, A., Kough, J., Gianinazzi-Pearson, V. IN: Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S. (Eds.), Mycorrhizae: Physiological and Genetical Aspects. INRA-Press, 1986. p 217-221.

Vonesch, E. 1968. Rev. Fac. Agr. Vet. Buenos Aires, 17: 49-58.  
Yordanov, I. Velikova, V and Tsonev A. 2000. Photosynthetica. 38:171-186.  
Zandstra, I.I. y Grant, W.F. 1968. Can. J. Bot. 46: 557-583.